

Penghasilan Enzim oleh Kulat *Aspergillus niger* Menggunakan Fermenter Skala 5 Liter.

Normah Norbib, Badarulhisam Abd. Rahman, Mohd. Nazlee Kamal, Hanapi Mat, Mohd. Roji Sarmidi, Dr. Fazilah Abd. Latif, Firdausi Razali.

Jabatan Kejuruteraan Bioproses, Fakulti Kejuruteraan Kimia dan Kejuruteraan Sumber Asli,
Universiti Teknologi Malaysia, Kuala Lumpur.
1993.

Pengenalan

Enzim glukosidase adalah enzim yang dapat memisahkan ikatan terminal B-D-glukosida karbohidrat untuk membentuk gula penurun seperti glukosa. Enzim ini dapat dihasilkan oleh mikroorganisma seperti kulat. Penghasilannya adalah secara ekstraselular (Markkanen *et al.*, 1978; Enari *et al.*, 1980; Fogarty, 1983.). Kulat *Aspergillus niger* dapat menghasilkan enzim penghidrolisis karbohidrat seperti kanji. Terdapat dua jenis enzim yang boleh dihasilkan iaitu glukosidase dan amilase. Kanji dapat ditukarkan kepada gula ringkas seperti glukosa yang mempunyai nilai komersial. Kajian ini bertujuan untuk mencari suhu penghasilan enzim yang optimum bagi proses fermentasi kelompok pada skala 5 liter fermenter.

Methodologi

Kajian kesan suhu ke atas penghasilan enzim glukosidase oleh kulat *A. niger* dilakukan dalam fermenter 5 liter secara kelompok, pada suhu 35°C, 45°C dan 65°C. Penyediaan media yang menggunakan tepung ubikayu (tapioca) mengikut kaedah Normah *et al.* (1992).

Analisis

Protein yang dihasilkan dianalisis menggunakan kaedah Biorad dan diukur kuantitinya dengan menggunakan spektrofotometer (Shimadzu-180). Gula penurun ditentukan dengan kaedah asid dinitrosalisalik (DNS) (Forgarty, 1983). Pengesaian aktiviti enzim mengikut kaedah Yoshiki *et al.* (1986). Kandungan glukosa ditentukan menggunakan glukosa analiser (YSI-27)

Hasil dan Perbincangan

Protein Larut

Dalam kajian ini didapati pada suhu 35°C penghasilan protein adalah meningkat pada 32 jam pertama (23.72 ug/ml) dan selepas 40 jam (27.03 ug/ml) (Rajah 1). Selepas itu kepekatan protein menurun. Pada suhu 45°C, peningkatan hasil protein agak lewat iaitu 24 jam pertama (8.23 ug/ml.), selepas itu menurun. Hasil protein adalah rendah berbanding dengan suhu 35°C (Rajah 1).

Hasil yang diperolehi pada suhu 55°C agak lambat meningkat iaitu selepas 48 jam proses fermentasi (24.37 ug/ml) berbanding dengan lain-lain suhu. Peningkatan hasil agak ketara pada suhu 65°C di mana selepas 8 jam fermentasi, hasil protein meningkat (25.18 ug/ml) kemudian selepas 32 jam (37.85 ug/ml) dan 48 jam (38.98 ug/ml) hasil meningkat. Selepas itu ia menurun. Pada suhu ini hasil lebih cepat meningkat (8 jam) tetapi peningkatan seterusnya adalah selepas 32 dan 48 jam. Corak penghasilan adalah berbeza dengan lain-lain suhu proses fermentasi.

Penurunan kepekatan enzim adalah berkaitan dengan mekanisme kawalan metabolisme. Pada permulaan peringkat proses fermentasi, enzim akan dihasilkan. Enzim ini akan bertindakbalas dengan substrat untuk menghasilkan gula penurun. Penghasilan gula penurun akan menyebabkan mekanisme metabolisme menghentikan penghasilan protein iaitu perencatan produk akhir (Turner *et al.* 1983). Walaubagaimanapun pengukuran kepekatan protein tidak dapat menentukan kepekatan enzim yang dihasilkan. Ini kerana kaedah yang digunakan mengukur bukan hanya enzim tetapi semua jenis protein yang terdapat di dalam sampel.

Gula Penurun dan Aktiviti Enzim

Selepas 24 jam proses fermentasi pada suhu 35°C gula penurun meningkat (18.75 ug/ml) tetapi menurun selepas 32 jam (4.5 ug/ml) (Rajah 2).

Pada suhu 45°C, gula penurun meningkat hanya selepas 16 jam (12.4 ug/ml) sehingga mencapai maksimum selepas 40 jam (109.13 ug/ml). Selepas itu berkurang. Penghasilan gula penurun bagi suhu 55°C berlaku peningkatan dengan cepat iaitu selepas 8 jam (232.13 ug/ml), tetapi menurun sedikit selepas 32 jam. Peningkatan berlaku lagi selepas 40 jam (367.88 ug/ml) kemudian menurun semula. Selepas 24 jam pengkulturan barulah gula penurun meningkat (89.25 ug/ml) bagi suhu fermentasi 65°C (Rajah 2). Enzim yang dihasilkan pada proses fermentasi akan bertindak pada ikatan B-D-glukosida kanji untuk menghasilkan gula penurun (Whistler *et al.*, 1984). Penggunaan semula gula penurun oleh *A. niger* untuk proses metabolisme menyebabkan pengurangan gula dan menghasilkan metabolik sekunder asid sitrik (Halpern, 1981).

Penghasilan gula penurun adalah berkait dengan aktiviti enzim. Aktiviti enzim yang tinggi menunjukkan kadar penghasilan gula penurun yang tinggi. Oleh itu corak histogram aktiviti enzim sama dengan gula penurun. Perbandingan antara Rajah 2 dan Rajah 3 boleh dilakukan.

Kandungan Glukosa

Didapati bahawa gula paling cepat dan tinggi dihasilkan ialah pada suhu 55°C (Rajah 4) iaitu sesuai dengan penghasilan gula penurun. Bagi tempoh 24 jam pertama, glukosa meningkat sehingga 120 ug/ml. Namun begitu, bagi suhu 35°C, penghasilan yang tinggi adalah selepas 64 jam (500 ug/ml). Peningkatan glukosa adalah selari dengan aktiviti enzim yang tinggi di mana proses penguraian kanji kepada glukosa berlaku dengan aktif. Penghasilan glukosa merencat penghasilan enzim. Oleh sebab itu ketika paras glukosa tinggi, paras enzim akan menurun. Mekanisma kawalan penghasilan enzim oleh kulat *A. niger* adalah secara perencatan produk-akhir.

Kesimpulan

Berdasarkan kepada rajah-rajah histogram yang telah dibincangkan di atas, kesimpulan telah diambil bahawa untuk penghasilan enzim yang baik, fermentasi pada suhu 55°C selama 40 jam ataupun fermentasi pada suhu 35°C selama 72 jam adalah dicadangkan.

Rujukan

Enari, T.M., M.L. Niku-Paavola & Nummi (1980). **Proceedings Second International Symposium on Bioconversion and Biochemical Eng.** IIT, Delhi.

Forgarty, W.M. (1983). **Microbial Enzymes and Biotechnology**. Applied Science Publisher, Ltd, USA.

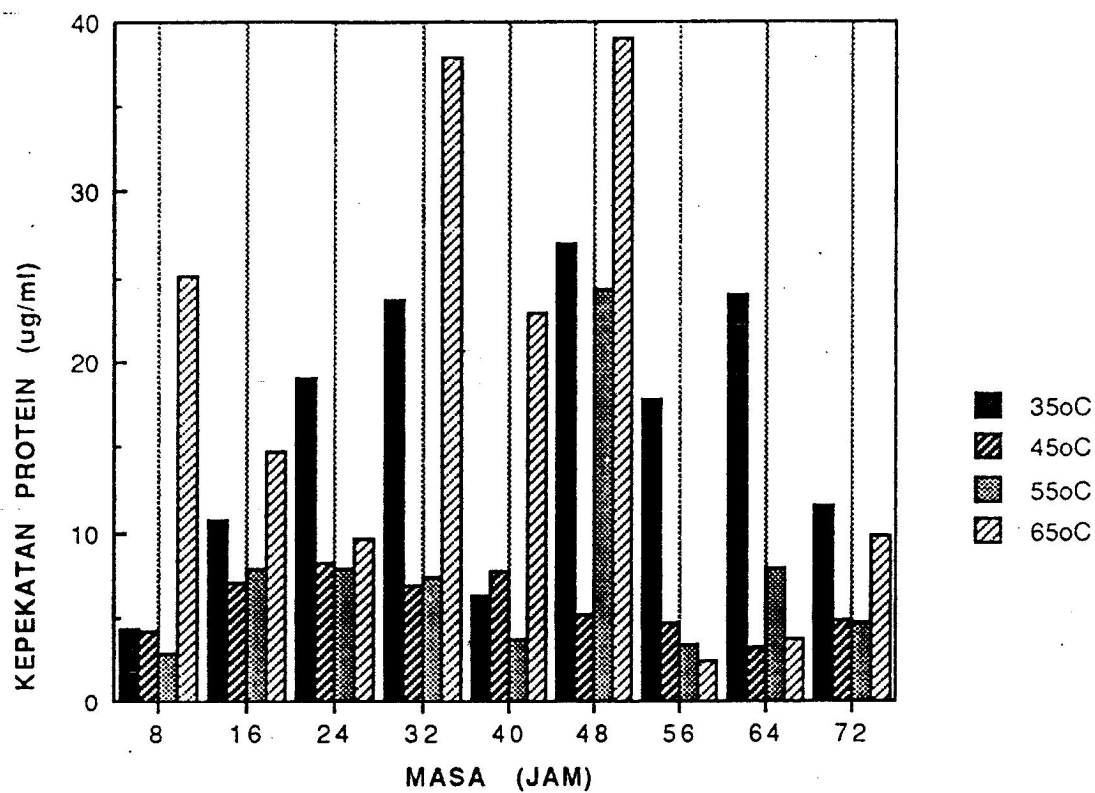
Halpern, M.G. (1981). **Industrial Enzymes from Microbial Source Recent Advances**. Noyes Data Corp. New Jersey, USA.

Markkanen, P.M., Bailey & T.M. Enari (1978). **Proceedings of Symposium Bioconversion in Food Technology**.

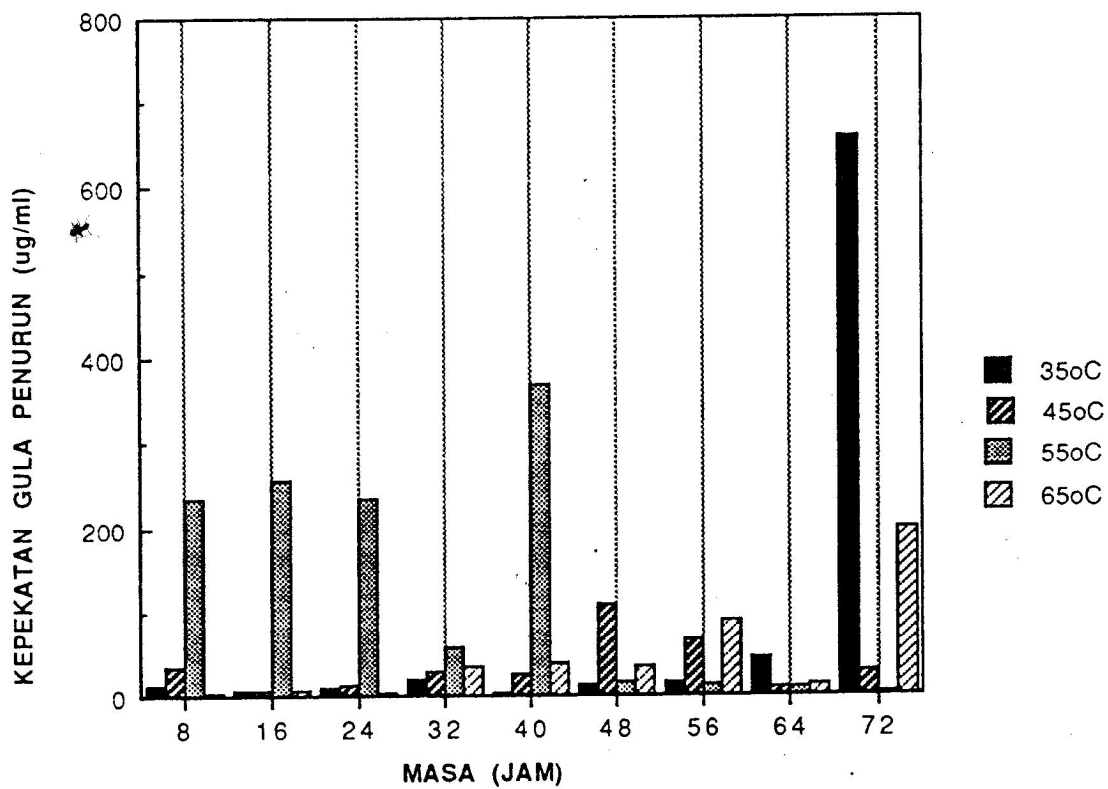
Normah, N.; B.A. Rahman; F.A. Latif; H. Mat; M.N. Kamal; M.R. Sarmidi (1992). Beberapa Parameter Penghasilan Enzim oleh kulat *Asp. Niger* menggunakan Substrat Tepung Ubi Kayu: Pengkulturan Dalam Kelalang Goncang: **Prosiding Seminar Penyelidikan FKKS, UTM**. 1-4.

Turner W.B. & D.C. Aldridge (1986). **Fungal Metabolites II**. Academic Press Inc. England.

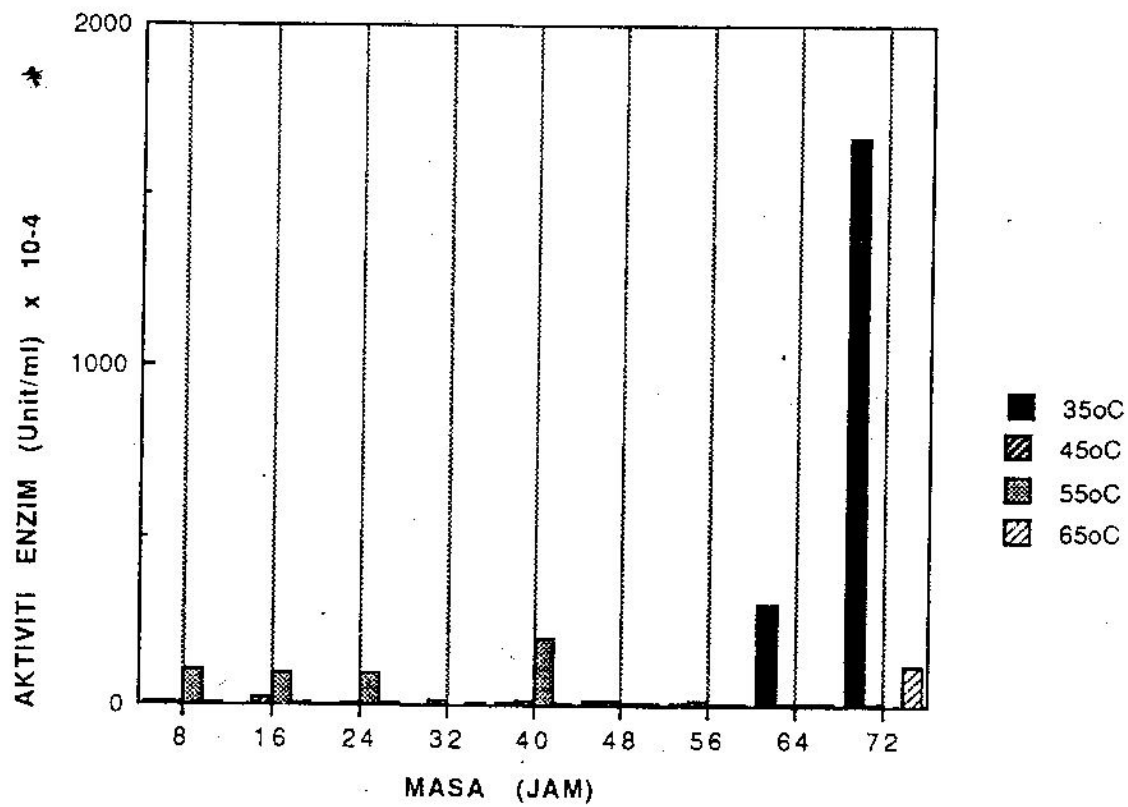
Whistler, R.L., J.N. Bemiller & E.F. Paschall (1984). **Starch Chemistry and Technology**. Academic Press, London.



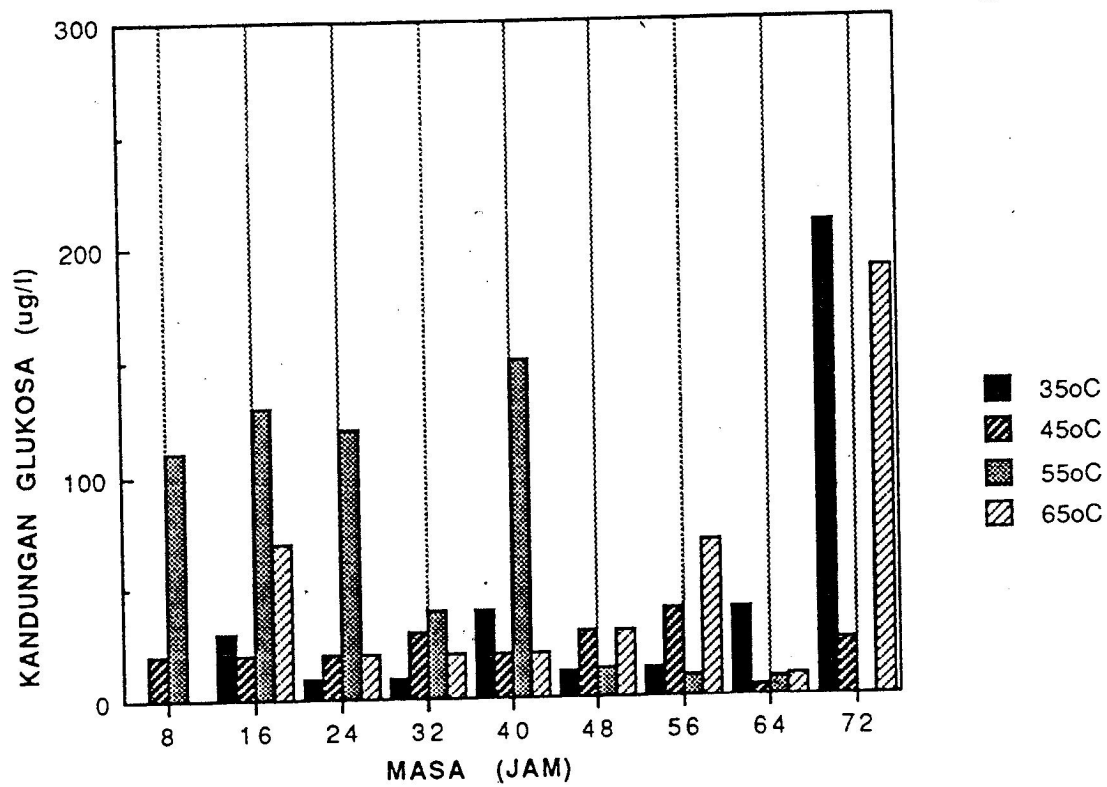
Rajah 1: Perbandingan Kepekatan Protein Larut Mengikut Suhu Fermentasi Yang Berbeza



**Rajah 2 : Perbandingan Gula Penurun
Mengikut Suhu Fermentasi yang Berbeza**



Rajah 3 : Perbandingan Keaktifan Enzim Yang Dihasilkan Pada Suhu Fermentasi yang Berbeza



Rajah 4 : Kandungan Glukosa Mengikut Suhu Fermentasi Yang Berbeza